

文章编号:1004 - 616 X(2001)03 - 0199 - 04

综述 ·

抑癌基因 PTEN/ MMAC1 的研究进展

霍 霞¹, 邓世华², 林 锐², 王 冉², 郭仕涛², 许险峰¹ 综述, 石嵩山 审校

(汕头大学医学院, 1. 中心实验室, 2. 97 级影像班, 广东 汕头 515031)

摘要: PTEN/ MMAC1 是位于染色体 10q23. 3 上的抑癌基因, 该基因的突变失活与多种肿瘤的发生发展密切相关, 本文简单概述该基因的研究进展。

关键词: PTEN/ MMAC1 ; 抑癌基因 ; 基因突变

中图分类号: R730. 231⁺. 9 文献标识码: A

肿瘤的发生是一个多因素、多阶段作用的过程, 癌基因的激活与抑癌基因的失活与异常被认为是其中重要的事件。PTEN/ MMAC1 为近年来发现的一种抑癌基因¹⁻³。目前, 已发现有十多种抑癌基因。抑癌基因是正常的细胞基因, 它们具有维持细胞正常生长、诱导细胞程序化死亡等功能。这些基因的突变, 可导致细胞的增殖分化失控, 增加细胞癌变的可能性。现有的实验证实 PTEN/ MMAC1 基因的突变失活与多种肿瘤的发生发展密切相关。PTEN/ MMAC1 在调节细胞的增生和死亡、细胞的转移和粘连等方面均起重要作用⁴。

1 PTEN/ MMAC1 的定位、结构特征与命名

在人类多种肿瘤的发生发展中常存在染色体 10q23 及其附近广泛的片断缺失, 提示染色体 10q23

及其附近可能存在抑癌基因。1997 年 Li 等¹ 和 Steck 等² 几乎同时报道了位于染色体 10q23. 3 上的肿瘤抑制基因即 PTEN¹ 或 MMAC1², 此后多合称为 PTEN/ MMAC1³。该基因位于染色体 10q23. 3 上, 包括 9 个外显子, 长 1 212 bp; 其编码产生的蛋白质 tep1 位于细胞质, 由 403 个氨基酸组成, 含有酪蛋白磷酸酶 (protein tyrosine phosphatases, PTP) 序列, 并与细胞骨架蛋白中的张力蛋白 (tensin) 有很大的同源性¹⁻³。由于这一基因蛋白的序列与 PTP 和 tensin 有关, 且基因又定位在染色体 10 上, 因此取名 PTEN¹。Steck 等² 根据该基因在多种肿瘤中有缺失和点突变, 又命名为 MMAC1 (mutated in multiple advanced cancers)²。此后合称为 PTEN/ MMAC1 基因³。

收稿日期: 2000 - 06 - 08; 修订日期: 2000 - 09 - 30

基金项目: 广东省卫生厅资助课题 (A1999371)

作者简介: 霍 霞 (1961 -), 女, 河南许昌人, 副教授, 博士, 以往主要从事发育生物学的研究。

- 8 Gaido ML, Cidowski JA. Identification, purification, and characterization of a calcium-dependent endonuclease (NUC18) from apoptotic rat thymocytes J. *J Biol Chem*. 1991, 266:18 580 ~ 18 585.
- 9 Nitahara J A, Cheng W, Liu Y, et al. Intracellular calcium, DNase activity and myocyte apoptosis in aging Fischer 344 rats J. *J Mol Cell Cardiol*. 1998, 30(3):519 ~ 535.
- 10 Verhoven B, Krahling S, Schlegel RA, et al. Regulation of phosphatidylserine exposure and phagocytosis of apoptotic T lymphocytes J. *Cell Death Differ*. 1999, 6(3):262 ~ 270.
- 11 Oliverio S, Amendola A, Rodolfo C, et al. Inhibition of tissue transglutaminase increases cell survival by preventing apoptosis J. *J Biol Chem*, 1999, 274(48):34 123 ~ 34 128.
- 12 Rittmaster RS, Thomas LN, Wright AS, et al. The utility of tissue transglutaminase as a marker of apoptosis during treatment and progression of prostate cancer J. *J Urol*, 1999, 162(6):2 165 ~ 2 169.
- 13 Melino G, Piacentini M. Tissue transglutaminase in cell death: a downstream or a multifunctional upstream effector J. *FEBS Lett*, 1998, 430(1 - 2):59 ~ 63.

2 PTEN/MMAC1 的功能特征

一些肿瘤基因可编码产生酪蛋白激酶(tyrosine protein kinase, TPK), TPK能使蛋白质磷酸化,通过连接磷酸基团,激活信号通路,导致细胞分裂,从而引起肿瘤的发生。而酪氨酸磷酸酶(PTP)可使蛋白质上的磷酸脱落,也就是说可去除其他蛋白质酪氨酸残基上连接的磷酸基团,对细胞增殖起负调控作用,这被认为是抑制肿瘤发生的关键一步,该作用正好与前述的酪蛋白激酶(TPK)相反。PTEN/MMAC1编码产生的蛋白质 $tep1$ 其中心序列正好与酪蛋白磷酸酶的序列相同^{1,2,5},提示 $tep1$ 可能具有酪蛋白磷酸酶的活性,故有作者认为PTEN也许是一种酪氨酸磷酸酶。多位作者的实验也证明PTEN的确能脱磷酸,具有酪氨酸磷酸酶活性^{6~8},能抑制细胞的不正常增殖分裂。此外, $tep1$ 蛋白还与细胞骨架蛋白中的tensin具有同源性^{1~3}。tensin蛋白通过粘合斑连接肌动蛋白轴丝,与细胞粘连、附着有关。粘合斑是肌动蛋白、聚集粘连激酶(focal adhesion kinase, FAK)、整和素(integrins)、生长因子受体等结合形成的复合体,该复合体参与调节细胞生长、肿瘤浸润、转移和血管生成^{1~3,9,10}。

3 PTEN/MMAC1 与细胞生长和细胞凋亡

Stambolic的实验¹¹表明PTEN/MMAC1 mRNA突变的鼠胚显示区域性的细胞增生,PTEN/MMAC1 mRNA缺乏的永生化鼠胚成纤维细胞对各种诱导细胞凋亡的刺激因素敏感性降低,即细胞凋亡率降低,同时伴随有蛋白激酶的活性和磷酸化持续升高。另外,突变细胞在表达了外源性PTEN/MMAC1后恢复了细胞对诱导细胞凋亡刺激剂的敏感性以及PKB/Akt磷酸化的正常模式。Davies等¹²的实验证实高表达凋亡抑制基因Bcl-2的LNCaP细胞可抑制PTEN/MMAC1介导的细胞凋亡,但不能阻止PTEN/MMAC1的生长抑制作用,提示PTEN/MMAC1的生长调节作用涉及多条通路。有报道认为^{13,14}PTEN可通过从3,4,5-三磷酸-磷脂酰肌醇(PIP3)上去除磷酸基团,阻滞了PIP3通路,关闭了生长信号,从而允许细胞进行自毁。相反,在肿瘤发生的过程中,PTEN基因的突变或丢失可能导致PIP3通路不能正常激活,使本应死亡的变异细胞无

节制生长。这提示PTEN/MMAC1可以控制细胞的生长和促进细胞的凋亡,亦即该基因与细胞生长的负调节有关。当PTEN/MMAC1突变时,将失去对细胞生长的负调节作用,这可能是导致肿瘤发生发展的机制之一。

4 PTEN/MMAC1 突变与肿瘤发生

据报道错构瘤综合征(Cowden syndrome)、前列腺癌、神经胶质瘤、乳腺癌、子宫内膜癌、卵巢肿瘤、黑色素瘤、膀胱癌、结肠癌、肺癌、肝癌等肿瘤细胞株和原位癌均发现有PTEN/MMAC1的突变。PTEN的基因突变,失去了对细胞生长的负调控,导致肿瘤进行性生长。PTEN基因突变还与肿瘤转移有关。以下主要对错构瘤综合征、前列腺癌、肺癌、脑胶质瘤等与PTEN/MMAC1的关系进行简单介绍。

4.1 Cowden 综合征

Cowden综合征又称为多发性错构瘤综合征,是一种常染色体显性遗传性疾病,常伴有较高的错构瘤、乳腺癌、甲状腺癌、皮肤癌、脑瘤等的发病率¹⁵。Nelen等¹⁶认为PTEN基因是Cowden综合征基因范围内有精确定位的基因。Liaw¹⁷等对5个Cowden综合征家族进行了PTEN突变的分析,证明有4个家族共11人存在有胚系突变,突变的基因影响了酪氨酸磷酸酶等的活性。其中3个家族的突变在第5个外显子,1个家族在第7个外显子。同时Nelen等¹⁸对8个无家族关联的Cowden病人进行了该基因的突变分析,发现在8个Cowden家族中有8个不同的突变位点,均产生异常蛋白,11个散发病例中有9例突变,其中5例位于第5外显子,这些突变均为胚系突变。因此,PTEN在胚系发育中也起到肿瘤抑制基因的作用。由上可见,Cowden病人存在不同位点的PTEN突变。不同课题组报道的突变率不同,也有的Cowden病人未检测到PTEN的突变,说明基因型和表现型无明显的关联。鉴于PTEN突变引起胚胎细胞多发性肿瘤的发生,故Liaw等¹⁷认为在胚胎器官发育中PTEN可能起着调节不同细胞类型相互关系的作用。

4.2 前列腺癌

PTEN的突变情况最先报道在前列腺癌细胞株,突变率为100%(4/4)¹¹。Wang等¹⁹报道60例前

列腺癌有 8 例 PTEN 纯合性缺失, 2 例杂合性缺失。Carins 等²⁰ 对 80 例散发性前列腺癌进行微卫星分析, 发现 23 例有染色体缺失, 其中 6 例纯合子缺失, 17 例杂合子缺失。在这 17 例杂合子缺失中有 4 例体细胞性 PTEN/MMAC1 突变, 均产生截短的异常蛋白。日本学者 Oriksa 等²¹ 对 45 例该国患者原发性前列腺癌标本的检测表明, 没有一例原发性前列腺癌病人发生 PTEN 基因的突变。故 Oriksa 等认为 PTEN 基因在日籍患者的前列腺癌发生过程中不起重要作用。

4.3 肺癌

Yokomizo 等²² 对 34 例小细胞肺癌 (SCLC) 细胞株、10 例小细胞肺癌标本、13 例非小细胞肺癌 (NSCLC) 细胞株、10 例非小细胞肺癌标本进行序列分析, 发现在小细胞肺癌中, 6 例 (18%) 细胞株和 1 例 (10%) 原发肿瘤标本的 PTEN/MMAC1 基因发生突变, 包括点突变、小片段缺失和纯合子的丢失, 在杂合子丢失的细胞株中均发现有点突变、小片段缺失, 然而非小细胞肺癌细胞株和肿瘤标本中, 均没有发现 PTEN/MMAC1 基因的突变, 因此, 他们认为 PTEN/MMAC1 的突变与小细胞肺癌的发生和发展有关, 而非小细胞肺癌无关。Kim 等²³ 用反转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 对 16 例小细胞肺癌细胞株的 PTEN/MMAC1 进行 mRNA 的表达检测, 并对潜在突变的 PTEN/MMAC1 译码区进行序列分析, 在上述 RT-PCR 表达 PTEN/MMAC1 的 15 例中没有发现有 PTEN/MMAC1 cDNA 的突变。因此他们认为 PTEN/MMAC1 突变在小细胞肺癌的发生是非常少见的。

4.4 肝癌

关于 PTEN/MMAC1 与肝癌的关系, 各家报道不一^{24~26}。为了调查 PTEN/MMAC1 在肝癌的起源上的潜在作用, kawamura 等²⁴ 对 96 例肝癌患者进行 10q 等位基因缺失和 PTEN/MMAC1 基因所有编码区域微小突变的检查。在这 96 例患者中有 5 例被检查到体细胞突变。其中 3 例发生移码突变, 1 例在外显子 4 上的 83-84 密码子有一个碱基对的插入, 两例在外显子 8 上的 318-319 密码子上有四个碱基对缺失; 另外两例有 C-G 的颠换突变, 发生在外显子 1 从起始密码子开始的第 5 非编码区的第 9 碱基对。

在这 96 例中没有发现错义突变。这些发现表明, 如果一个等位基因的基因内点突变和另一个染色体材料的丢失同时发生, PTEN/MMAC1 基因中就有两个等位基因被阻止。但是, Yeh 等²⁵ 通过应用嵌合 RNA 的 RT-PCR 技术和外显子 SSCP 分析检查了 42 例原发性肝癌的 PTEN/MMAC1 突变, 42 例中没有一例出现微小的缺失、点突变或插入突变, 其结果表明 PTEN/MMAC1 基因在肝癌的发病机制上不起任何作用。

4.5 脑胶质瘤

有关实验表明在高分化的神经胶质母细胞瘤中常伴随有 PTEN 基因的改变, PTEN 基因的失活在神经胶质母细胞瘤的发生和发展中起关键的作用^{1, 27, 28}。国内学者肖绍文等²⁹ 采用免疫组化 ABC 法检测 20 例多形性胶质母细胞瘤中 Pten/MMAC1/Tep1 基因的表达, 结果为 60% (12/20) 病例该基因表达缺失; 40% (8/20) 表达低下, 无一例表达正常。故认为 Pten/MMAC1 的表达异常可能与多形性胶质母细胞瘤的发生有关。

总之, 多数实验证明 PTEN/MMAC1 的突变与各种肿瘤的发生有密切的关系。PTEN 蛋白有调控蛋白质磷酸化并维持在适当水平的作用, 但其底物尚未完全清楚, 其调节机制及信号传递尚需作深入研究。而且肿瘤的发生是多基因作用的结果, 各相关基因在肿瘤的发生发展中相互作用。因此, 进一步研究 PTEN/MMAC1 基因的作用机制及其与其他基因的相互关系, 对肿瘤的诊断、治疗和预后等的判断和评估具有重要的临床意义。

参考文献

- 1 Li J, Yen C, Liaw D, *et al.* PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer J. *Science*, 1997, 275(5 308): 1 943 ~ 1 947.
- 2 Steck PA, Pershouse MA, Jasser SA, *et al.* Identification of a candidate tumour suppressor gene, MMAC1, at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancers J. *Nat Genet*, 1997, 15(4): 356 ~ 362.
- 3 Rhei E, Kang L, Bogomolnii F, *et al.* Mutation analysis of the putative tumor suppressor gene PTEN/MMAC1 in primary breast carcinomas J. *Cancer Res*, 1997, 57(17): 3 657 ~ 3 659.
- 4 Tian XX, Pang JC, To SS, *et al.* Restoration of wild-type PTEN

- expression leads to apoptosis, induces differentiation, and reduces telomerase activity in human glioma cells J. *J Neuropathol Exp Neurol*, 1999, 58(5):472~479.
- 5 Li DM, and Sun H. TEP1, encoded by a candidate tumor suppressor locus, is a novel protein tyrosine phosphatase regulated by transforming growth factor beta J. *Cancer Res*, 1997, 57(11):2124~2129.
- 6 Eng C, Marx S. The role of PTEN, a phosphatase gene, in inherited and sporadic nonmedullary thyroid tumors J. *Recent Prog Horm Res*, 1999, 54:441~453.
- 7 Myers MP, Stolarov JP, Eng C, et al. P-TEN, the tumor suppressor from human chromosome 10q23, is a dual-specificity phosphatase J. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(17):9052~9057.
- 8 Weng LP, Smith WM, Dahia PL, et al. PTEN suppresses breast cancer cell growth by phosphatase activity-dependent arrest followed by cell death J. *Cancer Res*, 1999, 59(22):5808~5814.
- 9 Tamura M, Gu J, Tran H, et al. PTEN gene and integrin signaling in cancer J. *J Natl Cancer Inst*, 1999, 91(21):1820~1828.
- 10 Ignatowski KM, Maehama T, Markwart SM, ERBB-2 overexpression confers PI 3 kinase-dependent invasion capacity on human mammary epithelial cells J. *Br J Cancer*. 2000, 82(3):666~674.
- 11 Stambolic V, Suzuki A, de la Pompa JL, et al. Negative regulation of PKB/Akt-dependent cell survival by the tumor suppressor PTEN J. *Cell*, 1998, 95(1):29~39.
- 12 Davies MA, Koul D, Dhesi H, et al. Regulation of Akt/PKB activity, cellular growth, and apoptosis in prostate carcinoma cells by MMAC/PTEN J. *Cancer Res*, 1999, 59(11):2551~2556.
- 13 Goberdhan DC, Paricio N, Goodman EC, et al. Drosophila tumor suppressor PTEN controls cell size and number by antagonizing the Chico/PI3-kinase signaling pathway J. *Genes Dev*, 1999, 13(24):3244~3258.
- 14 Wu X, Senechal K, Neshat MS, et al. The PTEN/MMAC1 tumor suppressor phosphatase functions as a negative regulator of the phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway J. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(26):15587~15591.
- 15 Nelen MR, Kremer H, Konings IB, et al. Novel PTEN mutations in patients with Cowden disease: Absence of clear genotype-phenotype correlations J. *Eur J Hum Genet*, 1999, 7(3):267~273.
- 16 Nelen MR, van Staveren WC, Peeters EA, et al. Germline mutations in the PTEN/MMAC1 gene in patients with Cowden disease J. *Hum Mol Genet*, 1997, 6(8):1383~1387.
- 17 Liaw D, Marsh DJ, Li J, et al. Germline mutations of the PTEN gene in Cowden disease, an inherited breast and thyroid cancer syndrome J. *Nat Genet*, 1997, 16(1):64~67.
- 18 Nelen MR, Van Stevenren WC, Peeters EA. Germline mutations in the PTEN/MMAC1 gene in patients with Cowden disease J. *Hum Mol Genet*, 1997, 6(8):1383~1387.
- 19 Wang SI, Parsons R, Ittmann M. Homozygous deletion of the PTEN tumor suppressor gene in a subset of prostate adenocarcinomas J. *Clin Cancer Res*, 1998, 4(3):811~815.
- [20] Cairns P, Okmi K, Halachmis S, et al. Frequent inactivation of PTEN/MMAC1 in primary prostate cancer J. *Cancer Res*, 1997, 57(22):4997~5000.
- 21 Orikasa K, Fukushige S, Hoshi S, et al. Infrequent genetic alterations of the PTEN gene in Japanese patients with sporadic prostate cancer J. *J Hum Genet*, 1998, 43(4):228~230.
- 22 Yokomizo A, Tindall DJ, Drabkin H, et al. PTEN/MMAC1 mutations identified in small cell, but not in non-small cell lung cancers J. *Oncogene*, 1998, 17(4):475~479.
- 23 Kim SK, Su L K, Oh Y, et al. Alterations of PTEN/MMAC1, a candidate tumor suppressor gene, and its homologue, PTH2, in small cell lung cancer cell lines J. *Oncogene*, 1998, 16(1):89~93.
- 24 Kawamura N, Nagai H, Bando K. PTEN/MMAC1 mutations in hepatocellular carcinomas: somatic inactivation of both alleles in tumors J. *Jpn J Cancer Res*, 1999, 90(4):413~418.
- 25 Yeh KT, Chang J G, Chen YJ, et al. Mutation analysis of the putative tumor suppressor gene PTEN/MMAC1 in hepatocellular carcinoma J. *Cancer Invest*, 2000, 18(2):123~129.
- 26 Yao YJ, Ping XL, Zhang H, et al. PTEN/MMAC1 mutations in hepatocellular carcinomas J. *Oncogene*, 1999, 18(20):3181~3185.
- 27 Wang SI, Puc J, Li J, et al. Somatic mutation of PTEN in glioblastoma multiforme J. *Cancer Res*, 1997, 57(19):4183~4186.
- 28 Rasheed BK, Stenzel TT, McLendon RE, et al. PTEN gene mutations are seen in high-grade but not in low-grade gliomas J. *Cancer Res*, 1997 Oct 1; 57(19):4187~4190.
- 29 肖绍文, 谢小薰, 罗国容, 等. 多形性胶质母细胞瘤 Pten/MMAC1/ Tep1 基因的表达研究 J. 广西医科大学学报, 1999, 16(6):732~733.